

## 断片不凍ペプチドの細胞凍結保護剤としての機能評価

(京工繊大) ○今堀 陽太 ・ 松尾 和哉 ・ 和久 友則 ・ 小堀 哲生

Cell Cryopreservation with Fragment Peptides from Anti-freezing Proteins (*Faculty of Molecular Chemistry and Engineering, Kyoto Institute of Technology*) ○ Yota Imahori, Kazuya Matsuo, Tomonori Waku, Akio Kobori

Cryopreservation is a basic technique to achieve long-term storage of cells. However, growth and recrystallization of ice crystals during freezing-thawing process induce cell death. To inhibit the damage, cryoprotectants are needed. Anti-freezing protein (AFP) obtained by creatures in cold regions has ice growth inhibition activity, and thus is expected to be a candidate of cryoprotectants. However, full length AFP is likely to be denaturation due to its high hydrophobicity, leading to the loss of its function. Herein, we investigate the cryoprotectant activity of the short fragments from AFP.

**Keywords :** *Anti-freezing protein; Cell; Peptide; Cryopreservation*

凍結保存は細胞を長期保存するための基礎的な技術である。しかし、凍結・解凍過程において、氷の成長や再結晶により傷害が生じ、細胞死が誘導される。そのためこれを抑制する凍結保護剤が用いられている。低温環境下で生息する生物から得られる不凍タンパク質 (AFP) は氷成長抑制の性質をもつことから細胞凍結保護に有用であると期待されている。しかし、疎水性残基に富んだタンパク質のため変性による機能損失が懸念される。これまでに我々は冬ガレイ由来である Type I AFP の N 末端から 12 残基の断片不凍ペプチド (**Table 1**) が、全長の Type I AFP と同様に氷成長を抑制することを報告している<sup>1)</sup>。本研究は、Type I AFP 由来の断片不凍ペプチドの細胞凍結保護活性の評価を目的とする。具体的には、断片不凍ペプチドを添加した 10% DMSO 含有培地中で細胞を凍結させたのち、解凍直後の細胞生存率を調査した。その結果、断片不凍ペプチドを添加することで非添加時と比較して細胞生存率の向上が示され、細胞凍結保護活性を有することが示唆された。

**Table 1.** Amino acid sequences of Type I AFP and AFP fragment

| Abbreviation | Amino Acid Sequence                  |
|--------------|--------------------------------------|
| Type I AFP   | DTASDAAAAAALTAANAKAAAELTAANAAAAAATAR |
| AFP fragment | DTASDAAAAAAL                         |

1) Y. Hagiwara, *et al.*, *PLoS ONE*, **2016**, 11, e0154782.